

杀雄剂 SQ-1 诱导玉米雄性不育效果研究

袁佳辰, 杨妍, 石艳锋, 刘士境, 朱钰, 师恭曜, 袁保梅, 田保明* (郑州大学生命科学学院, 河南郑州 450001)

摘要 [目的]分析杀雄剂 SQ-1 对玉米的杀雄效果。[方法]对 5 个不同的玉米品种(浚单 22、德农 20、吉祥一号、郑单 958、蠡玉)在散粉前 7 d 喷施浓度为 5 kg/hm² 的 SQ-1 处理,利用离体萌发法、碘-碘化钾染色法和 TTC 染色法 3 种方法分别鉴定花粉活力,并对比分析其穗型、顶端雄穗育性以及植株整体生长情况。[结果]经 SQ-1 处理的玉米植株,其穗小且籽粒少,顶端雄穗花粉数量少且活力差,花粉粒活性变弱。[结论]SQ-1 对玉米花粉有较显著的杀雄效果,可以作为玉米化学杀雄的有效途径之一。

关键词 玉米;SQ-1;杀雄剂;雄性不育

中图分类号 S513 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2019)03-0036-03

doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2019.03.011



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Male Sterility Induced by Chemical Hybridizing Agent SQ-1 in Maize

YUAN Jia-chen, YANG Yan, SHI Yan-feng et al (School of Life Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450001)

Abstract [Objective] To analyze the male sterility effects on maize by gametocide SQ-1. [Method] 5 kg/hm² SQ-1 was sprayed in five different species of maize (Jundan 22, Denong 20, Jixiang 1, Zhengdan 958, Liyu) 7 d before pollen flying. Then pollen viability was evaluated by three different methods, which were *in vitro* pollen germination method, I₂-KI staining method and TTC staining method. Parameters of the growth of plant were measured by comparing their shape of the fringe, the tassel and fertility. [Result] Maize which was dealt with SQ-1 had smaller spike and grain, less tassel, less and poorer quality pollen. [Conclusion] Chemical SQ-1 performs a significant effect on pollen vitality, and can be used as a chemical male sterility agent in maize.

Key words Corn;SQ-1;Male gametocide;Male sterility

利用化学杀雄剂培育品种是一种新型的作物育种方法,在国内外应用广泛^[1-5],它是指在植物雄性器官分化前或发育过程中,喷施内吸性化学药剂,经过一系列生理生化过程,阻止花粉的形成或抑制花粉的正常发育,诱导形成生理性雄性不育,不存在像细胞核质互作雄性不育体系中所要求的恢保关系。化学杀雄剂的优点主要表现为亲本选择范围广、可任意组配杂交组合,可有效代替人工去雄,大大减轻育种工作量,不需要较长的时间来进行三系的研制、转育、测试和培育,缩短育种周期,提高选种效率。此外,化学杀雄剂还可以为单倍体育种、人工诱导孤雌生殖简化杂交去雄手续,扩大杂种群体。

新型杀雄剂 SQ-1 是国内自主研发出的一种优良高效的小麦杀雄剂^[6-10],试验表明在适宜条件下可诱导小麦杀雄率达到 95%~100%,异交结实率超过 85%,对小麦发育无任何不良影响。近几年的许多试验都将 SQ-1 应用于禾本科作物,如糜子、谷子等的杀雄研究,都显示良好的试验效果^[7-10]。但是由于这些作物都是自花授粉甚至是闭花授粉,异交结实率很低,这极大地限制了将处理后的植株用于杂交育种以及杂交优势上的研究。鉴于此,笔者对 5 个不同的玉米品种(浚单 22、德农 20、吉祥一号、郑单 958、蠡玉)在散粉前 7 d 给予表面喷施剂量为 5 kg/hm² 的 SQ-1 后,以离体萌发法、I₂-KI 染色法和 TTC 染色法 3 种方法鉴定花粉活力,并从穗形、顶端雄穗、植株整体生长情况和玉米育性 4 个方面比较了未经杀雄剂处理和经 SQ-1 处理后的差异,旨在探究

SQ-1 对单子叶植物玉米的杀雄效果,扩大 SQ-1 的使用范围,实现玉米杂种优势的利用。

1 材料与方法

1.1 试验材料 浚单 22、郑单 958、吉祥一号、蠡玉和德农 20 共 5 个玉米品种均由河南省农业科学院提供。杀雄剂 SQ-1 由西北农林科技大学张改生教授惠赠。

1.2 田间设计 2011 年 5 月中旬将 5 个玉米品种播种于郑州大学实验田。按玉米品种分为 5 个区,每区 3 行,行距 40~50 cm,株距 30~40 cm,其他管理同大田。选定最佳喷施时期和喷施浓度,即玉米由营养生长期过渡到生殖生长阶段的大喇叭口时期,喷施剂量为 5 kg/hm²,喷药后挂牌标记,以备后期观察记录。

1.3 花粉活力检测 开花前用不同方法测定花粉活力以评判杀雄效果。2011 年 7 月,分别采集将要散粉的未处理和 SQ-1 处理过的玉米雄蕊,放入冰盒,快速带回实验室待测。用离体萌发法、碘-碘化钾染色法和 TTC 染色法 3 种方法鉴定花粉活力。

1.3.1 离体萌发法。将新鲜花粉从花药中剥出后,滴于平铺在载玻片上的培养基(15%蔗糖+3%琼脂+0.05%硼酸+0.1% CaCl₂)中,以移液枪吹吸均匀,置于 37 °C 恒温培养箱中培养 2 h。在显微镜下随机选取 5 个视野进行计数,统计花粉萌发率,计算平均值。花粉管长度大于花粉直径为有活力花粉,否则为无活力花粉。

1.3.2 碘-碘化钾染色法。将 1.3 g KI 溶于 10 mL 蒸馏水中,然后加入 0.3 g I₂,待完全溶解后定容至 100 mL。在载有花粉的载玻片上滴加 1~2 滴碘-碘化钾染液,用移液枪吹吸均匀后盖上盖玻片,即可在显微镜下观察,随机选取 5 个视野进行计数,统计有活力花粉的百分率并计算平均值。被染成蓝色的表示花粉中含有较大量淀粉,即默认其有活力,未

基金项目 河南省开发合作(172106000050);河南省教育厅高等学校重点科研项目(13A180437)。

作者简介 袁佳辰(1993—),女,河南安阳人,硕士研究生,研究方向:植物分子细胞遗传学。*通信作者,教授,博士,从事生物技术及遗传育种研究。

收稿日期 2018-07-30;修回日期 2018-09-17

被染色或呈黄褐色的为无生活力的花粉。

1.3.3 TTC 染色法。在载有花粉的载玻片上滴加 1 滴 1% TTC 染液,以移液枪吹吸均匀后盖上盖玻片。放置于室温下 30 min。随机选取 5 个视野在显微镜下观察并计算,统计有活力的花粉的百分率,计算平均值。被染成红色的花粉其生活力强,淡红色的次之,无色或黄褐色的为没有活力的花粉。

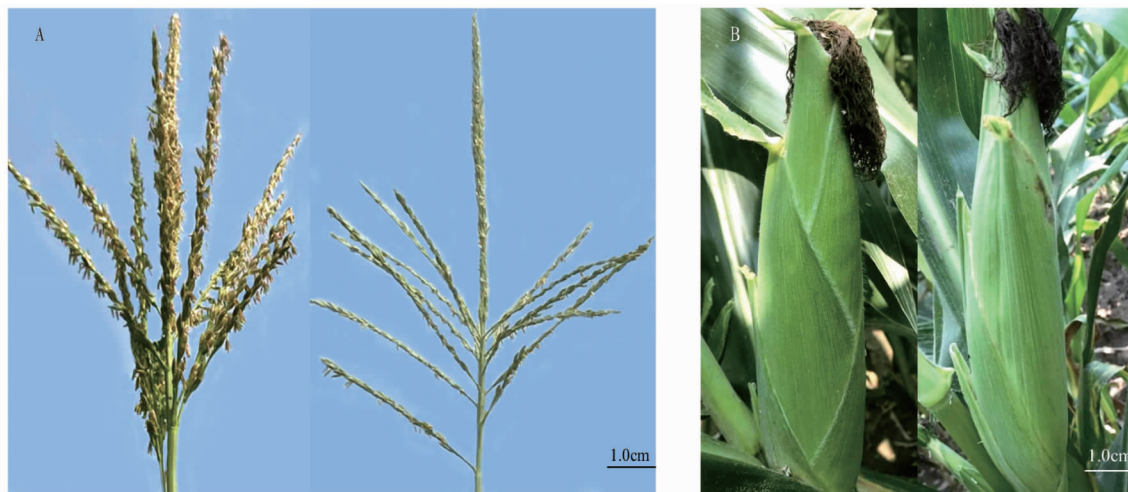
1.4 统计方法 离体萌发法:花粉活力=花粉管长度大于花粉直径的花粉/观察到的所有花粉 $\times 100$;碘-碘化钾染色法:花粉活力=被染成蓝色的花粉/(未被染色或呈黄褐色的花粉+被染成蓝色的花粉) $\times 100$;TTC 染色法:花粉活力=(被染成红色的花粉+被染成淡红色的花粉)/(无色或黄褐色的花粉+被染成红色的花粉+被染成淡红色的花粉) $\times 100$ 。

2 结果与分析

2.1 杀雄剂对玉米植株整体生长情况的影响 经杀雄剂 SQ-1 处理的植株稍为纤细,植株整体颜色稍淡,叶绿素含量

少,这可能是杀雄剂间接影响产量的一个主要途径^[5]。有资料显示,SQ-1 所属的二氮苯衍生物类的杀雄剂都能产生高度的雄性不育,但往往也对植株有较严重的药害,并导致部分雌性不育。该研究也发现了这种现象,有些植株在喷药 7 d 后即从喷药部位开始腐败,并向植株全身蔓延,导致整个植株死亡;还有少数植株的药害表现稍弱,只在喷药部位腐败,并未殃及全身,不过植株长势及产量明显受到影响。而未处理的植株整体为深绿色,生长茁壮。

2.2 杀雄剂对玉米雄、雌穗发育的影响 玉米顶端雄穗是生长雄性花蕊的部分,未进行处理及杀雄剂处理过的玉米顶端雄穗直观差异最大。通过对比观察可知,经 SQ-1 处理的玉米植株顶端分叉少且伸展短、细小,植株花粉总数明显少且质量难以保证(图 1A)。未经杀雄剂 SQ-1 处理的材料,其顶端雄穗分叉多,每个分叉伸展长且生长健壮,花粉总数多、质量好。



注:A. 处理前后的玉米雄穗;B. 处理前后的玉米雌穗

Note: A. Maize male spike before and after treatment; B. Maize female spike before and after treatment

图 1 杀雄剂对玉米雄、雌穗发育的影响

Fig. 1 Effects of male gametocide on the development of maize male and female spike

未经杀雄剂处理的玉米植株结出的玉米穗包叶为深绿色,显示旺盛的生命力,透过包叶可看到玉米粒着座情况很好,下端已明显鼓起。经杀雄剂处理后的植株,玉米穗包叶呈淡绿色,与未经处理的玉米穗相比明显较细,玉米粒着座情况不理想(图 1B)。成熟后经 SQ-1 处理的植株玉米穗短小、籽粒很少、空位很多。

2.3 杀雄剂对花粉活力的影响 经 SQ-1 处理的玉米花粉在显微镜下观察多形状不规则,很多几乎无内容物,细胞呈多面体形状,中间部分向内凹,呈明显败育状态(图 2A)。在活力检测过程中染色时只轻微着色呈浅黄色,一些细胞随染液漂流到盖玻片边缘并聚集;而未经处理的花粉则为饱满的圆球,TTC 染色时被染成深红色,碘-碘化钾染色时呈深蓝色或蓝紫色,在萌发培养基上长出很长的花粉管,不过因没有花粉管通道的限制,几乎所有的花粉管均不规则随意朝各个方向伸长,且经染色后可看出当花粉管伸出之后花粉粒细胞某些地方着色很浅,甚至可明显看出细胞内某些部位内容物

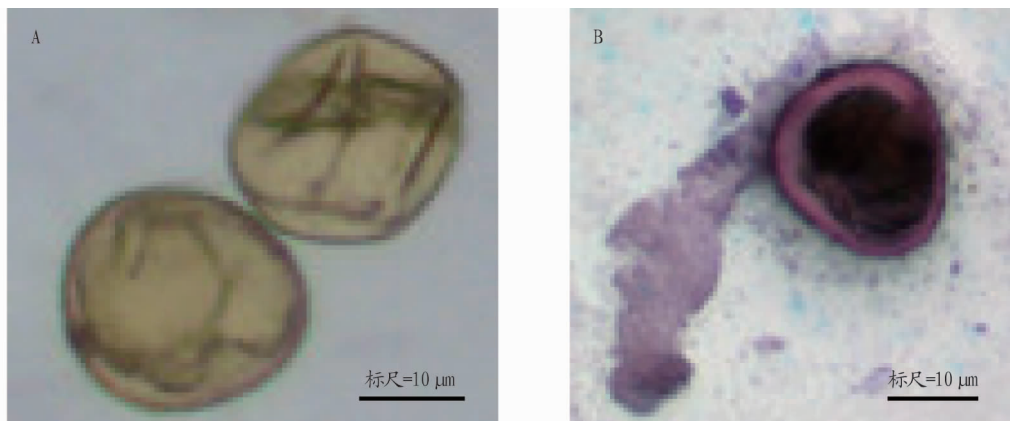
减少,细胞内陷(图 2B)。

2.4 SQ-1 对玉米育性的影响 该研究引入“相对活力”的概念,即是指将对照组的花粉活力设成标准即为 100%,计算出处理组的花粉活力。从图 3 可以看出,SQ-1 对试验所用的各种玉米材料的杀雄效果如下:在未经杀雄剂处理的对照组材料的花粉活力并未达到 100%的情况下,处理组的花粉活力差异仍相当大。同一玉米品种用不同方法检测到的花粉相对活力相差较大,即便是通过校对消除了检测方法造成差异的相对萌发率,仍有较大差距,实际应用中仍需进一步优化处理条件。

理论上讲,3 种方法测定的花粉活力存在差距,按大小顺序应为 $A_{\text{碘-碘化钾法}} > A_{\text{TTC法}} > A_{\text{离体萌发法}}$,这与该试验结果不一致。分析原因如下:TTC 法和 I_2-KI 法都是根据花粉着色深浅成都来判定花粉活力有无或大小的,而花粉粒着色情况在整体上是连续、渐进变化的,不同的检测者,甚至同一检测人在不同时间设定的活力标准是不同的,这就导致试验结果有偏

差;另一原因可能是取材问题,当所取的材料过于成熟时,花粉粒已经萌发,其内在的营养能量物质淀粉已被消耗,使以淀粉为底物的 I₂-KI 法测得的花粉活力相对较低,而离体萌

发法测得的活力则相对较高,以致于出现花粉萌发法或者 TTC 法测得的花粉活力大于 I₂-KI 法现象。



注:A. 杀雄剂处理后呈皱缩状的玉米花粉;B. 未处理的玉米花粉管正常萌发

Note: A. Shrivelled maize pollen after treated by male gametocide; B. Normal germination of maize pollen tube without treatment

图2 杀雄剂对玉米花粉活力的影响

Fig. 2 Effects of male gametocide on the pollen viability of maize

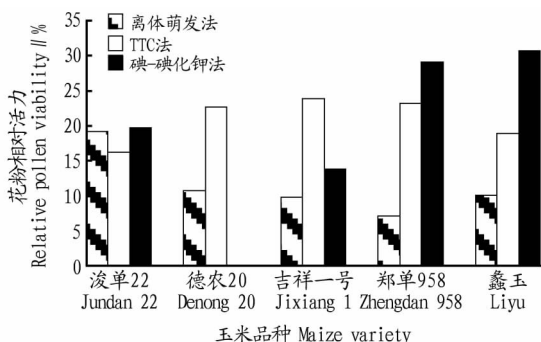


图3 SQ-1处理对不同玉米品种花粉相对活力的影响

Fig. 3 Effects of SQ-1 on the relative pollen viabilities of different maize varieties

由图4可知,不同玉米品种的花粉活力不同,即不同玉米品种对杀雄剂的敏感程度不同,其平均花粉败育率均未达到95%。以杀雄剂处理的花粉败育率在许多作物上达到95%以上^[5-9]的标准来看,SQ-1对玉米花粉有较显著的杀雄效果,可以作为玉米化学杀雄的有效途径之一。

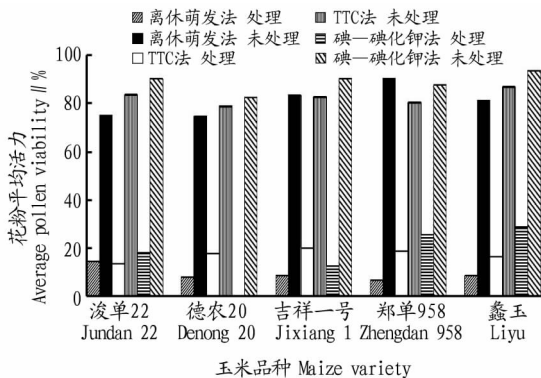


图4 SQ-1处理对不同玉米品种花粉平均活力的影响

Fig. 4 Effects of SQ-1 on the average pollen viabilities of different maize varieties

3 结论

对5个不同的玉米品种(浚单22、德农20、吉祥一号、郑单958、鑫玉)在散粉前7d给予表面喷施剂量为5 kg/hm²的SQ-1后,以离体萌发法、I₂-KI染色法和TTC染色法3种方法鉴定花粉活力,并从穗形、顶端雄穗、植株整体生长情况和玉米育性4个方面比较了未经杀雄剂处理和经SQ-1处理后的差异。结果显示,经SQ-1处理过的玉米花粉在显微镜下观察多呈现不规则的多面体形状,中间部分向内凹,很多几乎无内容物,呈明显败育状态;在后期的结实过程中,玉米粒着位情况不理想;雄穗分叉不多,花粉总数少;整棵植株纤细且颜色呈病态。因此,SQ-1对玉米花粉有较为显著的杀雄效果,可以做为玉米的去雄剂使用,但具体的处理时间、剂量等仍需进一步优化研究。

参考文献

- [1] 仇松英,许钢垣,武计萍,等. 化杀杂种小麦优势表现分析[J]. 山西农业科学,2000,28(1):3-5.
- [2] 罗昌敏,唐章林. 化学杀雄剂SX-1对重庆地区油菜的杀雄效果研究[J]. 安徽农业科学,2010,38(13):6747-6749.
- [3] MOORE R H. Several effects of maleic hydrazide on plants[J]. Science, 1950,112(2898):52-53.
- [4] NAYLOR A W. Observations on the effects of maleic hydrazide on the flowering of tobacco,maize and cocklebur[J]. Proc Nat Acad Sci,1950,36(4):230-232.
- [5] CROSS J W, LADYMAN J A R. Chemical agents that inhibit pollen development; Tools for research[J]. Sex Plant Reprod,1991,4(4):235-243.
- [6] 叶景秀,谢德庆. 化学杀雄剂SQ-1诱导青海高原春小麦雄性不育的初步研究[J]. 种子,2011,30(5):14-16.
- [7] 刘峰. 化学杀雄剂SQ-1与不同基因型糜子互作效应研究[J]. 杂粮作物,2008,28(6):363-365.
- [8] 李亚鑫,盛英,张改生,等. 杀雄剂SQ-1诱导的小麦生理型雄性不育系交替氧化酶基因(AOX1)的表达分析[J]. 麦类作物学报,2011,31(5):805-810.
- [9] 叶景秀,陈蕊红,张改生,等. 杀雄剂SQ-1诱导小麦雄性不育花药蛋白质组分析[J]. 农业生物技术学报,2009,17(5):858-864.
- [10] 宋瑜龙,王亮明,张改生,等. 杀雄剂SQ-1诱导谷子雄性不育研究[J]. 作物学报,2011,37(9):1695-1700.